

مقایسه‌ی اثر محافظتی افزودن زرده تخم گونه‌های مختلف پرندگان (مرغ، اردک و غاز) بر پارمترهای حرکتی اسپرم سگ در دمای ۴ درجه سانتی گراد

سمیه دست افکن برنتی، محمد عزیز زاده، پژمان میرشکرائی

گروه علوم درمانگاهی-بهداشت و پیشگیری بیماری‌های دامی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

E-mail address: mirshokraei@um.ac.ir

چکیده

رقیق کردن منی، یکی از روش‌های ذخیره‌سازی منی است. یکی از اجزا مهم رقیق‌کننده، زرده تخم مرغ است؛ زرده از اسپرم‌ها در مقابل آسیب‌های محافظتی می‌کند. در این مطالعه از ۵ قلابه سگ بومی استفاده و منی جمع‌آوری شده به روش manipulation از این سگ‌ها به ۳ نوع رقیق‌کننده (زرده تخم مرغ، اردک و غاز) همراه تریس، سیتریک اسید و فروکتوز اضافه شد، سپس نمونه‌ها در یخچال نگهداری و هر روز ۱۰ دقیقه پس از خروج از یخچال توسط دستگاه CASA ارزیابی شدند. معیارهای مطالعه پارامترهای مربوط به حرکت مثل حرکت کل، پیش‌رونده، آهسته و درجا، که توسط CASA بررسی می‌شود، می‌باشد. رقیق‌کننده زرده تخم مرغ در بیشتر این پارامترها به طور معنی‌داری نسبت به دو زرده دیگر، نتایج بهتری را ثبت کرد. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که زرده تخم مرغ نسبت به زرده تخم غاز و اردک در نگهداری اسپرم سگ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ارجحیت دارد.

واژه‌های کلیدی: سگ، اسپرم، رقیق‌کننده

مقدمه:

تلقیح مصنوعی که اولین بار در سگ‌ها توسط Lazzaro Spallanzani در سال ۱۷۸۰ در ایتالیا انجام و موجب تولد ۳ توله سگ شد، مسیر طولانی را طی کرده‌است. در دهه ۶۰ استفاده از منی منجمد گزارش شده و از دهه ۹۰ تلقیح مصنوعی یکی از روش‌های پرکاربرد پرورش سگ بوده‌است.

اسپرم جمع‌آوری شده به سه روش اسپرم تازه، سرد شده و منجمد استفاده می‌شود. در طی سرد کردن، پدیده "شوک سرما" رخ می‌دهد؛ که باعث کاهش تحرک اسپرمتوزوئید، کاهش متابولیسم و تغییر در نفوذپذیری غشاء می‌شود. با این‌حال، استفاده از رقیق‌کننده منی می‌تواند این پدیده را محدود کند رقیق‌کننده ایده‌آل برای نگهداری اسپرم باید دارای مواد مغذی، مواد بافرکننده و مواد تنظیم‌کننده فشار اسمزی باشد؛ از رشد باکتری‌ها جلوگیری کرده و در حین فرآیند انجماد، از سلول در برابر شوک سرما محافظت کند.

زرده تخم-مرغ از سال ۱۹۳۹ برای نگهداری اسپرم منجمد به آن اضافه می-شود؛ از بین ۹۰۰۰ گونه پرنده-ی موجود در دنیا، استفاده از زرده تخم-مرغ به عنوان یک ماده-ی سرما محافظ در ذخیره-سازی اسپرم-ها رایج است. ترکیب شیمیایی زرده در گونه‌های مختلف پرنده‌گان متفاوت است و این امر بر حفاظت از اسپرم در حین سرد شدن، انجماد و ذوب تأثیر می-گذارد.

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات سرما محافظی زرده تخم اردک و غاز در مقایسه با زرده تخم-مرغ برای نگهداری اسپرم سگ در دمای ۴ درجه سانتی-گراد بود، چرا که در تعدادی از تحقیقات زرده تخم پرنده‌گانی غیر از مرغ باعث بهبود کیفیت اسپرم در حین ذخیره-سازی شده-بود.
مواد و روش‌ها:

این آزمایش در بیمارستان دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، با استفاده از ۵ قلابه سگ نر بالغ انجام شد. پس از جمع-آوری منی به روش manipulation، نمونه-هایی با حداقل تحرک کل ۷۰٪ وارد آزمایش شدند. از رقیق-کننده حاوی تریس، سیتریک-اسید، فروکتوز، آنتی-بیوتیک و زرده تخم-مرغ، اردک و غاز مطابق جدول استفاده شد. در آزمایشگاه نمونه منی به ۳ قسمت مساوی تقسیم و به سه نوع رقیق-کننده اضافه شد. نمونه-ها در لوله‌های استریل دسته-بندی و به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی-گراد منتقل شدند. ارزیابی پارامترهای تحرک در روزهای صفر تا سه نگهداری اسپرم انجام شد.

مقدار ماده مورد نیاز (به ازای ۱۰ میلی لیتر محلول)

ماده مورد نیاز	رقیق کننده شماره ۱	رقیق کننده شماره ۲	رقیق کننده شماره ۳
تریس	۰/۳۰۲۵ میلی گرم	۰/۳۰۲۵ میلی گرم	۰/۳۰۲۵ میلی گرم
سیتریک اسید	۰/۱۷ میلی گرم	۰/۱۷ میلی گرم	۰/۱۷ میلی گرم
دی فروکتوز	۰/۱۲۵ میلی گرم	۰/۱۲۵ میلی گرم	۰/۱۲۵ میلی گرم
زرده تخم مرغ	۲ میلی لیتر	.	.
زرده تخم اردک	.	۲ میلی لیتر	.
زرده تخم غاز	.	.	۲ میلی لیتر
آب مقطر استریل	۷/۴۰۲۵ میلی لیتر	۷/۴۰۲۵ میلی لیتر	۷/۴۰۲۵ میلی لیتر

ارزیابی تحرک

۱۰ دقیقه بعد از خارج کردن نمونه‌ها از یخچال و نگهداری آن در دمای ۲۵ درجه، نمونه را روی محفظه شمارش قرار داده و توسط نرم افزار CASA، از لحاظ شاخص‌های تحرک ارزیابی گردید.

نتایج و بحث:

زرده تخم-مرغ عناصر مختلفی مانند ویتامین‌ها، مواد-معدنی، آنتی-بادی و آنتی-اکسیدان دارد و به علت در دسترس بودن در انجماد اسپرم چندین گونه پستاندار استفاده می-شود؛ با این-حال، ترکیب شیمیایی زرده در گونه‌های مختلف پرندگان متفاوت است و این امر بر حفاظت از اسپرم حین سرد شدن، انجماد و ذوب تأثیر می-گذارد. از آنجایی که تفاوت در ترکیب زرده‌های مختلف ممکن است روی کارایی آن‌ها برای انجماد اسپرم اثر داشته باشد، تلاش‌هایی برای شناسایی منابع مناسب زرده برای انجماد اسپرم انجام شده‌است. در بعضی مطالعات استفاده از زرده تخم پرندگانی به غیر از مرغ، برای انجماد اسپرم نریان، الاغ، گاو، قوچ و بوفالو بهتر بوده‌است. در روزهای صفر و ۱ میانگین حرکت کل (٪) در گروه زرده تخم-مرغ به شکل معنی-داری از گروه زرده تخم اردک و در روزهای صفر، ۱ و ۳ از گروه زرده تخم غاز بیشتر بود. حرکت پیشرونده (٪) اسپرم در گروه زرده تخم-مرغ در روزهای صفر، ۱ و ۲ ارزیابی به شکل معنی-داری از گروه زرده تخم اردک و در تمامی روزها از گروه زرده تخم غاز بیشتر بود. در تمامی روزها درصد اسپرم-های پرسرعت گروه زرده تخم-مرغ به شکل معنی-داری از گروه زرده تخم غاز و در روز ۱ از گروه زرده تخم اردک بیشتر بود. در روز صفر و ۲ ارزیابی درصد اسپرم-های پرسرعت در گروه زرده تخم اردک به شکل معنی-داری از گروه زرده تخم غاز بیشتر بود. درصد اسپرم-ها با حرکت آهسته در روز صفر در گروه زرده تخم غاز به شکل معنی-داری از دو گروه دیگر بیشتر بود. در سایر روزهای ارزیابی اختلاف معنی-داری در بین گروه‌ها دیده نشد. در روز صفر ارزیابی، درصد اسپرم-ها با حرکت درجا در گروه زرده تخم غاز به شکل معنی-داری از دو گروه و در روز ۲ در گروه زرده تخم غاز به شکل معنی-داری از گروه زرده تخم اردک بیشتر بود. مقایسه بین رقیق-کننده-حاوی زرده تخم-مرغ، زرده تخم اردک و زرده تخم غاز، نشان داد که در پارامترهای حرکتی اسپرم اختلاف معنی-داری بین رقیق-کننده زرده تخم-مرغ با ۲ رقیق-کننده دیگر وجود دارد و استفاده از زرده تخم-مرغ برای نگهداری اسپرم سرد سگ، ارجحیت دارد.

پارامتر	گروه	روز ۰	روز ۱	روز ۲	روز ۳
حرکت کل (%)	تخم مرغ	۹۱/۱۰ ± ۱/۲۶	۸۴/۱۱ ± ۳/۱۴	۸۰/۹۱ ± ۳/۹۲	۷۸/۲۱ ± ۳/۲۵
	تخم اردک	۸۵/۰۸ ± ۱/۹۹	۷۸/۱۴ ± ۳/۴۴	۷۳/۷۲ ± ۴/۵۴	۷۳/۰۱ ± ۴/۲۱
	تخم غاز	۸۳/۹۴ ± ۲/۴۱	۷۵/۹۳ ± ۳/۲۹	۷۲/۸۰ ± ۳/۹۹	۶۹/۲۰ ± ۳/۷۱
حرکت پیشرونده (%)	تخم مرغ	۷۵/۷۴ ± ۱/۷۶	۶۶/۹۶ ± ۲/۶۲	۶۳/۵۲ ± ۳/۴۴	۵۴/۵۴ ± ۳/۵۹
	تخم اردک	۶۸/۳۳ ± ۲/۳۰	۵۸/۴۹ ± ۳/۰۰	۵۴/۷۸ ± ۴/۱۸	۴۸/۶۰ ± ۴/۲۲
	تخم غاز	۶۴/۵۰ ± ۲/۲۶	۵۶/۱۰ ± ۲/۷۶	۵۰/۸۹ ± ۳/۴۵	۴۳/۰۳ ± ۳/۶۰
حرکت پرسرعت (%)	تخم مرغ	۴۷/۵۹ ± ۲/۹۴	۴۱/۶۳ ± ۲/۰۲	۳۵/۴۸ ± ۳/۲۷	۲۷/۱۲ ± ۳/۳۱
	تخم اردک	۴۱/۴۴ ± ۳/۱۸	۳۳/۸۱ ± ۲/۶۱	۲۸/۷۶ ± ۳/۴۳	۲۱/۳۴ ± ۳/۳۷
	تخم غاز	۳۲/۹۲ ± ۲/۶۳	۲۹/۵۶ ± ۲/۴۲	۲۱/۹۹ ± ۲/۳۵	۱۵/۹۱ ± ۲/۰۵
حرکت آهسته (%)	تخم مرغ	۲۳/۹ ± ۱/۳۸	۲۵/۳۳ ± ۱/۵۱	۲۵/۹۵ ± ۲/۱۰	۲۷/۴۲ ± ۲/۰۲
	تخم اردک	۲۳/۷۰ ± ۱/۵۵	۲۴/۶۹ ± ۱/۴۶	۲۴/۸۸ ± ۲/۰۰	۲۷/۲۵ ± ۲/۴۰
	تخم غاز	۲۹/۰۱ ± ۱/۵۹	۲۶/۵۵ ± ۱/۴۲	۲۶/۹۰ ± ۲/۰۱	۲۷/۱۱ ± ۲/۴۲
حرکت درجا (%)	تخم مرغ	۱۴/۵۵ ± ۱/۱۱	۱۷/۱۴ ± ۱/۱۲	۱۶/۹۰ ± ۱/۵۵	۱۹/۴۵ ± ۱/۷۹
	تخم اردک	۱۵/۶۶ ± ۱/۵۴	۱۹/۶۴ ± ۱/۲۷	۱۷/۰۸ ± ۱/۰۲	۱۹/۷۷ ± ۱/۴۵
	تخم غاز	۱۹/۰۸ ± ۱/۱۲	۱۹/۸۳ ± ۱/۳۹	۲۰/۸۹ ± ۱/۳۲	۲۱/۵۶ ± ۱/۷۲

منابع:

1. Mason, S.J., Current review of artificial insemination in dogs. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 2018. 48(4): p. 567-580.
2. Bencharif, D., et al., Canine-chilled sperm: study of a semen extender made with low-density lipoproteins from hen egg yolk supplemented with glutamine. *Reproduction in Domestic Animals*, 2013. 48(2): p. 258-266.